

Влияние ультразвука при экстракции *Fucus vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства

Е. Д. Облучинская, О. Н. Пожарицкая ✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Мурманский морской биологический институт Российской академии наук (ММБИ РАН). 183038, Россия, г. Мурманск, ул. Владимирская, д. 17

✉ Контактное лицо: Пожарицкая Ольга Николаевна. E-mail: olgapozhar@mail.ru

ORCID: Е. Д. Облучинская – <https://orcid.org/0000-0003-4456-656X>;

О. Н. Пожарицкая – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Статья поступила: 09.07.2024

Статья принята в печать: 24.03.2025

Статья опубликована: 28.03.2025

Резюме

Введение. Перспективным источником для выделения фукоидана является *Fucus vesiculosus* L. – широко распространенный вид бурых водорослей. В последние годы активно изучается возможность применения фукоидана в медицине и фармации. Метод извлечения полисахаридов существенно влияет на их характеристики и функции. Для повышения эффективности экстракции широко исследуется возможность использования ультразвука (УЗ).

Цель. Изучение влияния времени низкочастотной УЗ-экстракции бурых водорослей *F. vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства.

Материалы и методы. В качестве сырья использовали свежемороженые бурые водоросли *F. vesiculosus*. УЗ-экстракцию проводили с помощью ультразвуковой установки УЗТА-0,4/22-ОМ с частотой колебаний 22 кГц и при температуре 25 °С. Экстракт получали при температуре 60 °С методом динамической мацерации. Гомогенность и молекулярную массу фукоидана анализировали методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ). ИК-фурье-спектры фукоидана получали на спектрометре VERTEX 70. Количественное определение фукозы и сульфатов выполнено ВЭЖХ и спектрофотометрическим методом соответственно. Антиоксидантную активность (АОА) фукоидана оценивали с использованием теста железовосстанавливающей антиоксидантной способности (FRAP). Математическую и статистическую обработку результатов выполняли в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи (ГФ) РФ XV издания с помощью программного обеспечения МО Excel 2007.

Результаты и обсуждение. Рассчитанная скорость деградации фукоидана составила 19,5 %/ч. Константа скорости реакции и период полураспада, рассчитанные по модели второго порядка ($R^2 > 0,97$), составили $5,8 \cdot 10^{-6}$ моль/(г · мин) и 110 мин. УЗ-деградация фукоидана происходила преимущественно за счет случайного разрыва цепи ($R^2 > 0,98$). Методом ИК-фурье-спектрометрии установлено, что предварительные структуры фукоидана без УЗ-обработки и после экстракции с УЗ-обработкой не были изменены. Анализ антиоксидантной активности показал, что фукоидан после УЗ-экстракции, несмотря на снижение молекулярной массы, демонстрировал значительную антиоксидантную активность *in vitro*.

Заключение. Впервые показано изменение структурных и антиоксидантных свойств фукоидана, вызванное низкочастотной УЗ-обработкой при экстракции. УЗ-экстракция фукоидана приводит к снижению средней молекулярной массы и деградации фукоидана без значительного разрушения сульфатных групп. В целом это исследование показывает, что низкочастотная ультразвуковая экстракция, которая является мягким, экологичным методом, осуществляемым за короткий промежуток времени, может быть эффективно использована для экстракции фукоидана без критического изменения молекулярной массы и антиоксидантной активности.

Ключевые слова: фукоидан, ультразвук, активность, кинетика деградации, экстракция

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. Д. Облучинская – дизайн исследования, выделение образца и его анализ, обработка данных. О. Н. Пожарицкая – дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, обзор публикаций. Оба автора участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания Мурманскому морскому биологическому институту РАН (№ гос. регистрации 124013000732-7).

Для цитирования: Облучинская Е. Д., Пожарицкая О. Н. Влияние ультразвука при экстракции *Fucus vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):112–121. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1869>

Influence of ultrasound extraction of *Fucus vesiculosus* on the kinetics of fucoidan degradation and its properties

Ekaterina D. Obluchinskaya, Olga N. Pozharitskaya ✉

Murmansk Marine Biological Institute of the Russian Academy of Sciences (MMBI RAS). 17, Vladimirskaia str., Murmansk, 183038, Russia

✉ **Corresponding author:** Olga N. Pozharitskaya. **E-mail:** olgapozhar@mail.ru

ORCID: Ekaterina D. Obluchinskaya – <https://orcid.org/0000-0003-4456-656X>;
Olga N. Pozharitskaya – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Received: 09.07.2024

Accepted: 24.03.2025

Published: 28.03.2025

Abstract

Introduction. A promising source for isolating fucoidan is *Fucus vesiculosus* L., a widespread species of brown algae. In recent years, the possibility of using fucoidan in medicine and pharmacy has been widely studied. The method of extracting polysaccharides significantly affects their characteristics and properties. To improve extraction efficiency, the possibility of using ultrasonic-assisted extraction (UAE) has recently been widely explored.

Aim. Study of the influence of the time of low-frequency UAE of brown algae *F. vesiculosus* on the kinetics of fucoidan degradation and its properties.

Materials and methods. Fresh frozen brown algae *F. vesiculosus* L. were used as raw material. UAE was carried out at an oscillation frequency of 22 kHz and a temperature of 25 °C. The extract was obtained at a temperature of 60 °C using the dynamic maceration method. The homogeneity and molecular weight of fucoidan were analyzed by high-performance size exclusion chromatography (HPSEC). FT-IR spectra of fucoidan were obtained on a VERTEX 70 spectrometer. Quantitative determination of fucose and sulfates was performed using a spectrophotometric method. The antioxidant activity (AOA) of fucoidan was assessed using FRAP test. Mathematical and statistical processing of the results was carried out in accordance with Russian Federation Pharmacopeia XV edition using MO Excel 2007 software.

Results and discussion. The calculated rate of fucoidan degradation was 19.5 %/h. The reaction rate constant and half-life calculated using the second-order model ($R^2 > 0.97$) were $5.8 \cdot 10^{-6}$ mol/(g · min) and 110 min. Ultrasonic degradation of fucoidan occurred predominantly due to random scission model ($R^2 > 0.98$). Using FTIR spectrometry, it was found that the preliminary structures of fucoidan without ultrasound and after ultrasound extraction were not changed. Analysis of antioxidant activity showed that fucoidan after ultrasonic extraction, despite a decrease in molecular weight, demonstrated significant antioxidant activity *in vitro*.

Conclusion. For the first time, a change in the conformational and antioxidant properties of fucoidan caused by low-frequency UAE was shown. UAE of fucoidan leads to a decrease in average molecular weight and degradation of fucoidan without significant destruction of sulfate groups. Overall, this study shows that the low frequency ultrasonic extraction, which is a gentle, environmentally friendly method that can be completed in a short period, can be effectively used to extract fucoidan without critically changing the molecular weight and antioxidant activity.

Keywords: fucoidan, ultrasound, activity, degradation kinetics, extraction

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Ekaterina D. Obluchinskaya – study design, sample extraction and analysis, data processing. Olga N. Pozharitskaya – study design, analysis and interpretation of data, review of publications. Both authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

Funding. This study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the Government Assignment to the Murmansk Marine Biological Institute Russian Academy of Sciences (State Reg. No. 124013000732-7).

For citation: Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N. Influence of ultrasound extraction of *Fucus vesiculosus* on the kinetics of fucoidan degradation and its properties. *Drug development & registration*. 2025;14(2):112–121. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1869>

ВВЕДЕНИЕ

Фукус пузырчатый (*Fucus vesiculosus* L.), отличительной особенностью которого является высокое содержание фукоидана, в последние годы привлекает повышенное внимание. Фукоиданы – это сульфатированные полисахариды, обладающие противораковыми, антитромботическими, антикоагулянтными и противовирусными свойствами. Установлено, что фукоиданы защищают растения, произрастающие в литоральной зоне, от высыхания и обеспечивают стабильность клеточных стенок. Многочисленные исследования доказали способность фукоидана препятствовать окислительному стрессу. При наружном применении фукоидан ускоряет выработку кератиноцитов и укрепляет эпидермис, снижая негативное воздействие ультрафиолетового излучения, обладает выраженным противовоспалительным действием. При пероральном применении наблюдается увеличение выработки гемоксигеназы и супероксиддисмутазы, которые защищают внутриклеточное пространство от проникновения свободных радикалов, превращая их в обычные молекулы кислорода [1, 2]. В последние годы активно изучается возможность применения фукоидана в медицине и фармации [3, 4].

Метод экстракции имеет решающее значение, поскольку он определяет выход, чистоту и характеристику фукоидана, полученного из бурых водорослей [5, 6]. Ранее для экстракции фукоидана использовали методы, основанные на растворении полисахаридов клеточной стенки горячей водой, обработке кислотными/щелочными и органическими растворителями [5]. Однако эти технологии требуют много времени, неэкологичны, энергозатратны и могут изменить структуру фукоидана, что приведет к снижению его активности [7]. Несмотря на высокий выход, получаемый при использовании традиционных методов экстракции, это длительный процесс, а конечный продукт требует дополнительной очистки, что затрудняет его дальнейшее применение в медицине и фармации [8, 9]. Поэтому были разработаны экологически чистые методы экстракции фукоидана, включая ультразвуковую (УЗ) экстракцию, микроволновую экстракцию, экстракцию с использованием ферментов, экстракцию жидкостью под давлением и экстракцию импульсным электрическим полем [7, 10]. УЗ-экстракция – это быстрый и эффективный метод, в котором для интенсификации процесса используется ультразвук. Кавитационные пузырьки, вызванные УЗ, растут и схлопываются, что приводит к взрыву (также известному как макротурбулентность), впоследствии смягчают поверхность клеток морских бурых водорослей, тем самым улучшая контакт с растворителем [11]. Сообщалось, что под воздействием УЗ происходит деполимеризация макромолекул [5].

За последние несколько лет предложены технологии переработки разных видов растительного сырья с использованием УЗ. Как указывают авторы, использование УЗ при экстракции компонентов рас-

тительного сырья позволяет значительно интенсифицировать процесс и снизить затраты на его проведение [12–14]. Хотя предыдущие исследования с использованием УЗ показали высокую эффективность экстракции фукоидана из бурых водорослей, кинетические исследования, анализирующие механизмы деструкции и свойства целевой молекулы, все еще ограничены.

Цель исследования – оценить влияние УЗ-экстракции бурых водорослей *F. vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительный материал. Бурые водоросли *F. vesiculosus* L., собранные осенью на литорали Баренцева моря (губа Зеленецкая, Россия) во время отлива, промытые и замороженные.

Методика экстракции фукоидана. УЗ-экстракцию проводили после обезжиривания сырья с использованием установки УЗТА-0,4/22-ОМ (ООО «Центр ультразвуковых технологий», Россия). Ультразвуковое воздействие на растительное сырье проводили с частотой 22 кГц, интенсивностью 50 Вт/см², в течение 20–80 мин. Термостатирование экстракционной среды при 25 ± 0,5 °С осуществляли в проточном термостате TW-2.02 (ELMI, Латвия). Время экстрагирования под воздействием УЗ изучали для подбора оптимальных значений и оценки возможной деградации фукоидана. Извлечение без УЗ-обработки получали при температуре 60 ± 2 °С методом динамической мацерации [8]. В обоих случаях в качестве экстрагента был использован 5%-й водный раствор этилового спирта (об./об.) при pH 4. Соотношение сырье:экстрагент составляло 1:30 (мас./об.). Мацерацию проводили при перемешивании на магнитной мешалке со скоростью вращения 180–200 об/мин и при температуре 60 ± 2 °С в течение 40 мин. После проведения экстракции отделяли супернатант центрифугированием (10 000 g в течение 15 мин, Hettich Universal 320 R, Германия). Альгинат удаляли осаждением 2%-м раствором NaHCO₃ и центрифугированием. Супернатант концентрировали с использованием кассет Vivasflow®200 MWCO 10 000 (Sartorius, Германия) при давлении 3 атм. После очистки раствор лиофилизировали в течение 24 ч на сублимационной сушилке «ИНЕЙ-4» (ИБП РАН, Россия) и анализировали полученный фукоидан.

Общие аналитические методы. Фукозу анализировали после гидролиза 2 М трифторуксусной кислотой при 121 °С в течение двух часов с последующим анализом методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием рефрактометрического детектора. Результаты выражали в г/100 г на абсолютно сухую массу (а.с.м.). Все измерения проводились в трехкратной повторности. Гомогенность и молекулярную массу (Mw) фукоидана анализировали методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ) с использованием

хроматографа LC-20 AT Prominence (Shimadzu Corporation, Япония), оснащенного двумя колонками TSKgel (Tosoh Bioscience GmbH, Германия) и предколонкой PWX. В качестве подвижной фазы использовали воду деионизированную со скоростью 0,4 мл/мин при 70 °С. Колонки калибровали с использованием стандартов Shodex P-82 Pullulan Standard Kit (Showa-Denko Co., Япония) и Blue Dextran 2000 (GE HealthCare, США). Количественное определение фукозы выполняли спектрофотометрическим методом; степень сульфатирования исследуемых образцов определяли турбидиметрическим методом с использованием спектрофотометра Jenway 6305 UV/Vis (Jenway Ltd., Великобритания). АОА фукоидана оценивали с использованием теста общей железовосстанавливающей антиоксидантной способности (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP) [15]. ИК-фурье-спектры фукоидана получали на спектрометре VERTEX 70 (Bruker, Германия), оснащенный приставкой с ослабленным полным отражением Пайка (призма из ZnSe). Программное обеспечение для спектроскопии Bruker OPUS использовали для сбора и анализа данных [16].

Скорость деградации рассчитывали в соответствии с [17]. Среднюю степень полимеризации (СП) рассчитывали в соответствии с [18], используя молекулярную массу мономерного звена фукоидана [19]. Кинетика деградации фукоидана под действием УЗ при экстракции была изучена в соответствии с моделью кинетики нулевого, первого и второго порядков [20]. Механизм разрушения полимерной цепи фукоидана под воздействием УЗ при экстракции оценивали по разрыву в средней точке и случайным образом [21]. Математическую и статистическую обработку результатов выполняли в соответствии с требованиями ГФ РФ 15 с помощью программного обеспечения МО Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кинетика деградации фукоидана под воздействием УЗ. Первоначально рассчитали скорость деградации фукоидана при низкочастотной УЗ экстракции (рисунок 1).

Скорость деградации фукоидана в течение первых 40 мин УЗ-экстракции практически не менялась, затем в последующие 20 мин достигла 18 %/ч и к окончанию процесса составила 19,5 %/ч. Средняя СП зависела от времени обработки УЗ. Например, величина СП снизилась за 60 мин от исходного значения, равного 666, до значения 543 и к концу процесса составила 489. Ранее было показано, что молекулярный вес макромолекул зависит от интенсивности УЗ, что позволяет стандартизировать данный процесс [18]. Определение средней степени полимеризации фукоидана позволяет достаточно точно охарактеризовать его деструкцию при различных химических, физических и биологических воздействиях. Для прогнозирования возможной деградации фукоидана при УЗ-экстракции *F. vesiculosus* были рассчитаны коэффициенты корреляции (R^2) уравнений нулевого (0,9538), первого (0,9645) и второго (0,9728) порядка в зависимости от времени экстракции. Кинетическая кривая второго порядка в зависимости от времени обработки представлена на рисунке 2, А. Константу скорости реакции (k) и периоды полураспада ($t_{1/2}$) рассчитывали по модели реакции второго порядка. Значение k было $5,8 \cdot 10^{-6}$ моль/(г·мин), а время $t_{1/2}$ составило 110 мин. Ранее было показано, что снижение температуры при УЗ-обработке при получении фукоидана трепанга приводит к уменьшению значения величины k и увеличению времени $t_{1/2}$ [11]. Данный эффект замедленной деполимеризации можно объяснить потерей энергии кавитации, поскольку энергия

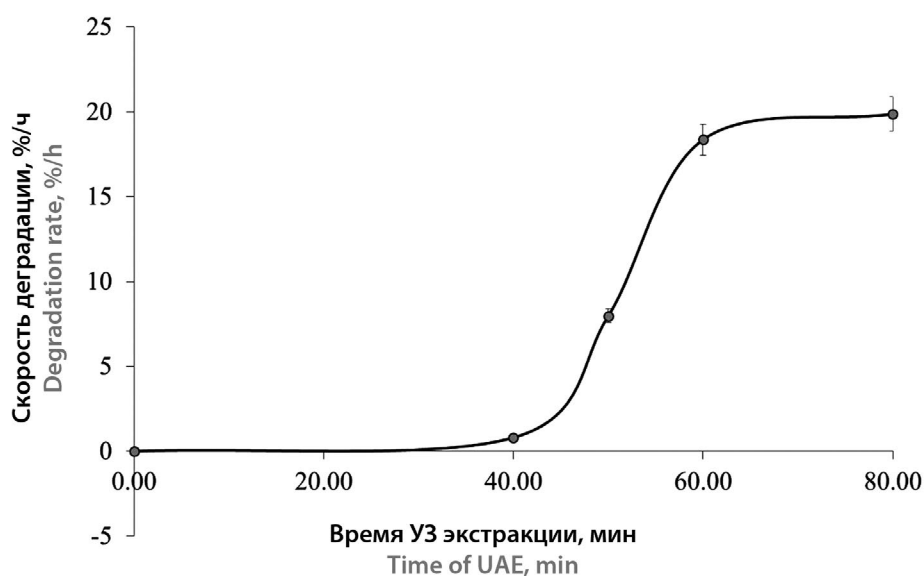


Рисунок 1. Скорость деградации фукоидана под действием ультразвука при экстракции

Figure 1. Changes of degradation rate of fucoidan with increasing ultrasonic time

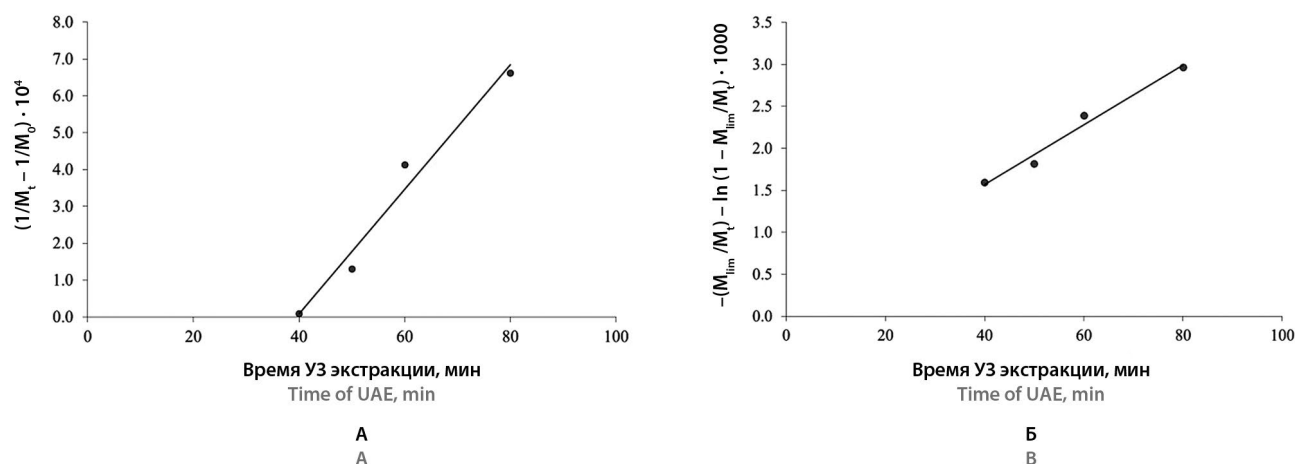


Рисунок 2. Модельные кривые деградации фукоидана при экстракции под действием УЗ.

А – Кинетическая модель деградации второго порядка; **Б** – Модель случайного разрыва цепи

Figure 2. Model curves of fucoidan degradation during UAE.

A – Second-order kinetic model of degradation; **B** – Random scission model

легче выходит из кавитационных пузырьков при более высокой температуре. Использование температуры 25 °С при УЗ-экстракции *F. vesiculosus* позволило снизить скорость разложения фукоидана в ходе экстракции.

Для описания механизма разрыва цепи полимеров были исследованы две модели: модель средней точки и модель случайного разрушения. Модель разрушения средней точки предполагает, что разрыв цепи происходит в центре основной цепи и, напротив, модель случайного разрушения предполагает, что разрушение полимера является случайным и любая цепная связь обладает одинаковой вероятностью разрушения [21, 22].

Было установлено, что модель случайного разрыва демонстрирует лучшую линейную зависимость, чем график модели разрыва в средней точке. Кроме того, значение R^2 модели случайного разрыва ($>0,98$) показало, что эта модель более приемлема для описания экспериментальных данных (рисунок 2, Б). Таким образом, УЗ-деградация фукоидана происходила преимущественно за счет случайного разрыва. Аналогично модель случайного разрыва полисахаридной цепи оказалась более подходящей для описания УЗ-деградации фукоидана трепанга [11], в то время как для полисахаридов другой структуры характерна деградация под действием УЗ в соответствии с моделью разрыва в средней точке, как, например, для хитозана [21], глюкоманнана [23] и пектина [24].

Зависимость средней молекулярной массы фукоидана и коэффициента полидисперсности от продолжительности воздействия УЗ при экстракции показана на рисунке 3.

Средневесовая молекулярная масса M_w в течение первых 40 мин экстракции с использованием УЗ практически не изменялась в выбранных условиях: модуль экстракции 1:30, температура 25 °С. Затем

наблюдали постепенное снижение M_w с 520 кДа до 360 кДа через 80 мин. Значения индекса полидисперсности, которые указывают на распределение M_w , быстро увеличивались с 1,45 до 2,28. Ранее сообщалось, что высокомолекулярные полимеры с длинными цепями преимущественно разрушаются под действием силы сдвига, возникающей в результате быстрого схлопывания кавитационных пузырьков [21, 25]. Увеличение значений индекса полидисперсности в первые 50 мин обусловлено присутствием в экстракционной среде как нативных, так и разрушенных остатков молекул фукоидана. После дальнейшей УЗ-обработки наблюдали смещение M_w в область с более низкой молекулярной массой, что привело к узкому молекулярно-массовому распределению.

Функциональные группы фукоидана *F. vesiculosus*, полученного динамической мацерацией, сравнивали со спектрами фукоидана, полученного УЗ-экстракцией при оптимальных параметрах процесса (время экстракции 40 мин), методом ИК-фурье-спектроскопии в диапазоне длин волн 3500–800 cm^{-1} (рисунок 4). Следует отметить широкую характеристическую полосу с максимумом при 3421 cm^{-1} , характеризующую группу О—Н. Полосы поглощения при 2924 и 2851 cm^{-1} показывают, что в образовании гидроксильных групп участвуют водородные связи макромолекулы. Наличие интенсивных сигналов при 1619 cm^{-1} свидетельствует о валентных колебаниях $\text{C}=\text{C}$, также их можно объяснить асимметричными валентными колебаниями $\text{C}=\text{O}$ уроновых кислот. Полоса поглощения при 1426 cm^{-1} была отнесена к деформационным колебаниям $\text{C}-\text{OH}$. Полосу при 1269 cm^{-1} можно объяснить асимметричным валентным колебанием $\text{S}=\text{O}$ в сульфатных группах. Два пика при 1075–1036 cm^{-1} соответствуют валентным колебаниям полуацетата $\text{C}-\text{O}$ и валентным колебаниям $\text{C}-\text{O}$ и $\text{C}-\text{C}$ пиранозных

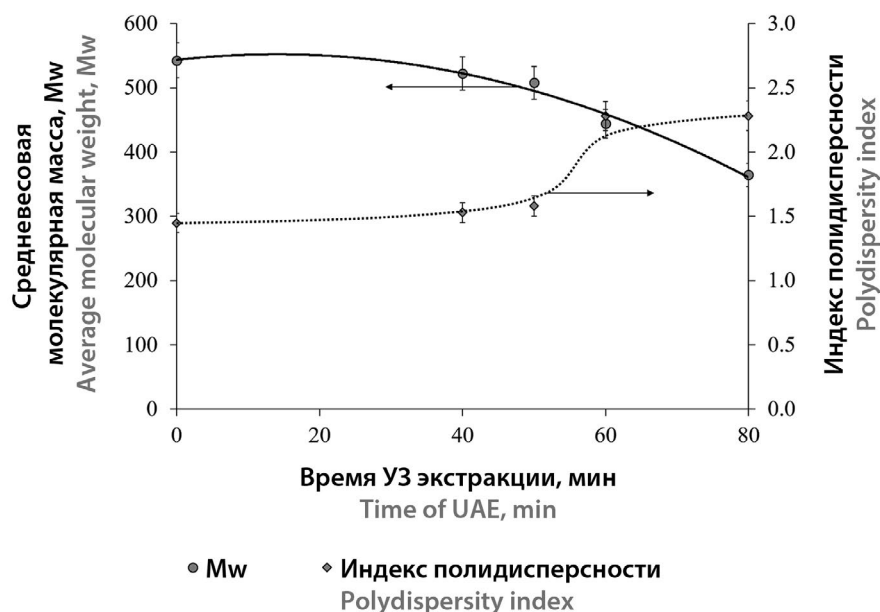


Рисунок 3. Влияние длительности УЗ на средние значения Mw и индекса полидисперсности фукоидана при экстракции *F. vesiculosus*

Figure 3. Effect of UAE time on the weight average molecular weight Mw and polydispersity index of fucoidan during *F. vesiculosus* extraction

колец. Плечо, наблюдаемое при 946 см^{-1} , может быть связано с валентным колебанием C—O уроновой кислоты. Характеристический пик при 818 см^{-1} показывает, что в образовании сульфатных групп C—O—S присутствует изгиб сульфата в экваториальном положении; сульфат, связанный в экваториальном положении C-2 и C-3 L-фукозы, и плечо при 840 см^{-1} было приписано сульфатным группам в аксиальном положении C-4 [26]. Для образца фукоидана, полученного УЗ-экстракцией, основные характеристические пики при 3421 , 2924 , 1269 , 1075 – 1036 и 891 см^{-1} были практически идентичны характеристическим пикам фукоидана, полученного мацерацией.

Сходство ИК-фурье-спектров фукоидана, полученного мацерацией и УЗ-экстракцией, указывает на то, что основные повторяющиеся звенья цепи фукоидана не разрушаются УЗ. Более того, не было явного изменения характеристических полос при 1269 и 818 см^{-1} , вызванных растяжением S=O и изгибной вибрацией C—O—S, что указывает на отсутствие значимого десульфатирования во время УЗ-обработки. Результаты подтвердили тот факт, что не произошло никаких существенных изменений в основных ИК-фурье-спектрах фукоидана после УЗ-экстракции.

Содержание сульфатов и фукозы как основной мономерной единицы фукоидана приведено на рисунке 5.

Анализ количественного содержания сульфатов и фукозы до и после УЗ-экстракции показал (рисунок 5), что в течение первых 40 мин экстракции содержание сульфатных групп и фукозы не изменя-

ется, а затем наблюдается снижение сульфатов с $24,7\text{ г/100 г а.с.м.}$ до $16,7\text{ г/100 г а.с.м.}$, при этом уровень фукозы остается практически неизменным. Эти результаты подтверждают тот факт, что деградация фукоидана происходила без каких-либо значительных побочных реакций и значительного восстановления сульфатных групп. Таким образом, можно сделать вывод, что вся повторяющаяся единица исходного фукоидана все еще существовала в полученном при УЗ-экстракции фукоидане.

В этом исследовании антиоксидантная активность *in vitro* фукоидана, полученного мацерацией и УЗ-экстракцией, была исследована методом FRAP, а данные представлены на рисунке 5. Важную роль в АОА полисахаридов играет их молекулярная масса, причем способность блокировать свободные радикалы возрастает с уменьшением молекулярной массы [11]. АОА образца фукоидана (рисунок 5) увеличивалась в течение начального периода обработки УЗ, а затем показала тенденцию к снижению по мере продолжения УЗ-обработки. Увеличение АОА на первом этапе может быть обусловлено несколькими причинами [11]: во-первых, молекулы полисахаридов с меньшей молекулярной массой и внутримолекулярными водородными связями имеют больше свободных гидроксильных и аминогрупп; во-вторых, полисахариды с более низкой молекулярной массой содержат больше редуцирующих сахаров (фукозы) при том же уровне массовой концентрации. Однако на втором этапе снижение Mw замедлялось (рисунок 3), при этом изменение состава полисахарида было более выраженным, что приводило к снижению АОА.

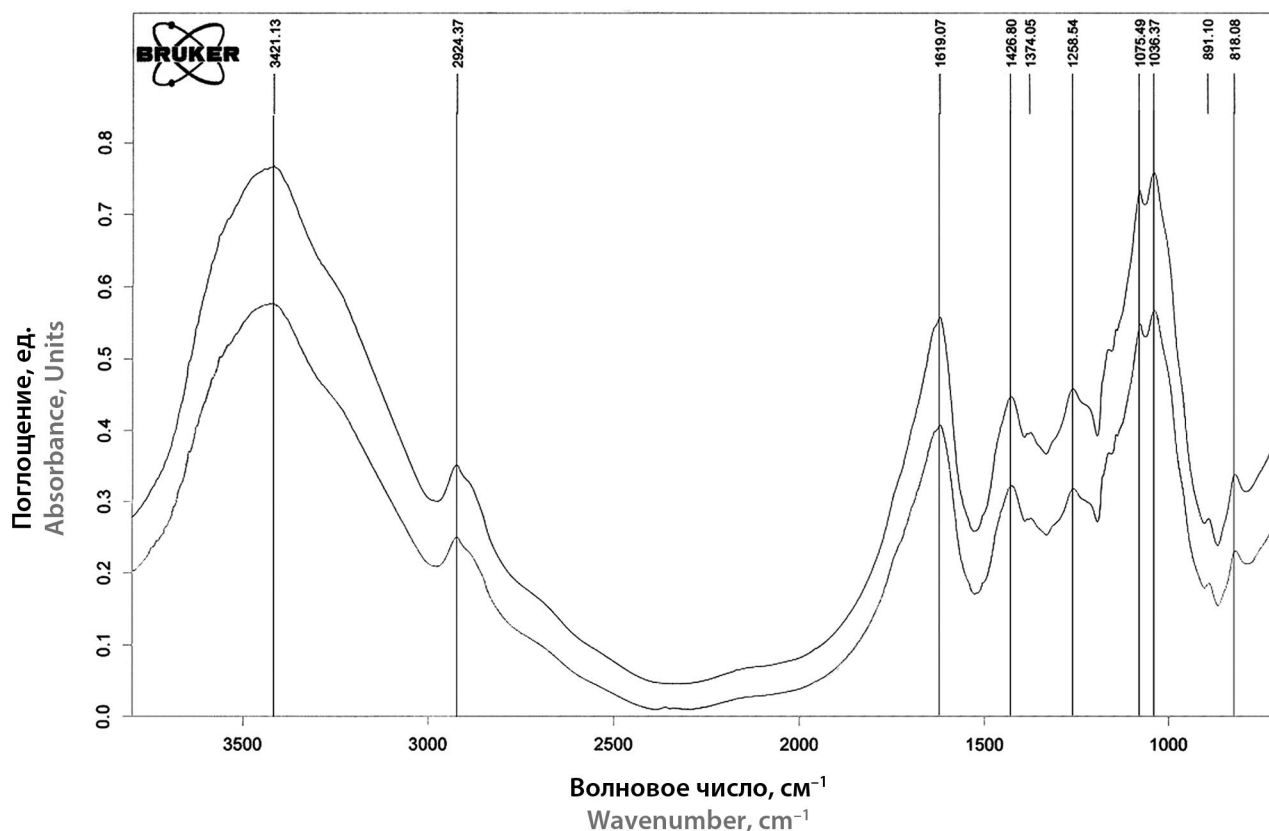


Рисунок 4. ИК-фурье-спектры фукоидана, выделенного методом динамической мацерации (верхняя линия), и фукоидана, полученного при низкочастотной УЗ-экстракции (нижняя линия) в течение 40 минут

Figure 4. FT-IR spectra of fucoidan after dynamic maceration (top line) and fucoidan after ultrasonic extraction (bottom line) for 40 minutes

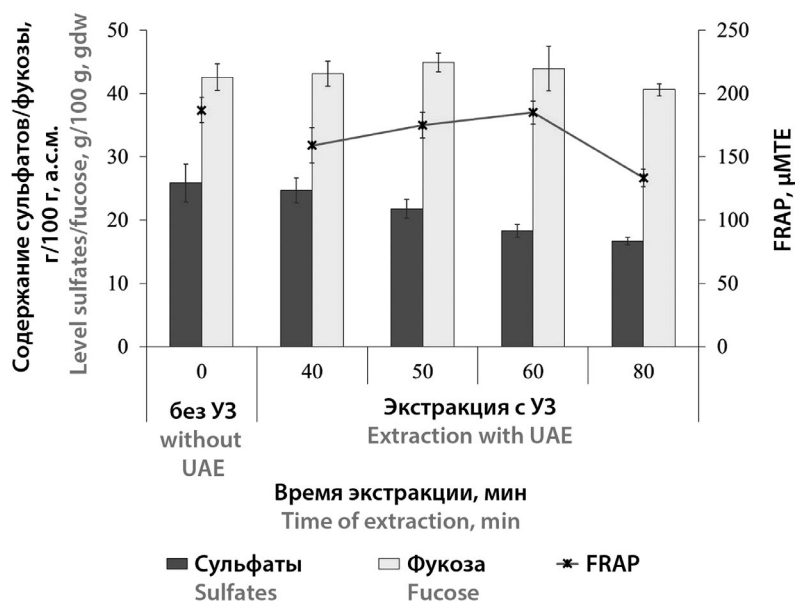


Рисунок 5. Влияние времени УЗ-экстракции *F. vesiculosus* на содержание сульфатов/фукозы и антиоксидантную активность фукоидана

Figure 5. Effect of ultrasonic extraction time of *F. vesiculosus* on sulfate/fucose content and antioxidant activity of fucoidan

УЗ-процесс – это мягкий, эффективный и экологически чистый метод экстракции. На начальном этапе экстракции (0–60 мин) Mw фукоидана снизилась, при этом АОА разложившихся фракций усилилась. Таким образом, мы предположили, что деградация происходит главным образом за счет механического воздействия, а не за счет изменения химического состава. Активные группы, отвечающие за АОА, не были повреждены. Следовательно, разрыв водородных связей между молекулами фукоидана является основной причиной снижения Mw на этой стадии. По мере продолжения УЗ-экстракции Mw снижалась в меньшей степени. В то же время снижение АОА может являться показателем разрушения некоторых других биологически активных веществ, соэкстрагируемых с фукоиданом, например полифенольных соединений [15]. Показано, что применение УЗ-экстракции более 40 мин приводит к снижению выхода фенольных кислот, флавоноидов, а также гидролизу флавоноидных гликозидов [27]. Известно, что УЗ-волна может вызвать сдвиговую силу и образовать радикалы Н• и НО•. На основании результатов химического анализа и определения АОА мы предположили, что возможный УЗ-механизм воздействия на фукоидан может представлять собой комбинацию механической и свободнорадикальной деградации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение следует отметить, что в настоящем исследовании были изучены предварительная характеристика, кинетика деградации и антиоксидантная активность *in vitro* фукоидана из *F. vesiculosus*, выделенного методом динамической мацерации и низкочастотной УЗ-экстракции. Результаты показали, что при УЗ-экстракции происходит снижение молекулярной массы фукоидана. Математическая модель кинетики второго порядка $1/M_t - 1/M_0 = k \cdot t$ оказалась работоспособной для контроля экстракции и деградации фукоидана во время УЗ-экстракции. Уменьшение молекулярной массы со временем при УЗ-экстракции фукоидана соответствовало кинетической модели случайного разрыва цепи. Предварительный анализ структуры фукоидана без УЗ и после экстракции ультразвуком показал, что они не были изменены. Изучение антиоксидантной активности показало, что фукоидан после УЗ-экстракции, несмотря на снижение молекулярной массы, демонстрировал значительную антиоксидантную активность *in vitro*. Таким образом, низкочастотная ультразвуковая экстракция как мягкий, экологически чистый метод, который может быть осуществлен за короткий промежуток времени, может эффективно улучшить антиоксидантную активность фукоидана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Усов А. И., Билан М. И. Фукоиданы – сульфатированные полисахариды бурых водорослей. *Успехи химии*. 2009;78(8): 846–862. DOI: 10.1070/RC2009v078n08ABEH004063.
2. Lomartire S., Gonçalves A. M. M. Algal phycocolloids: bioactivities and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*. 2023;21(7):384. DOI: 10.3390/md21070384.
3. George A., Shrivastav P. S. Fucoidan, a brown seaweed polysaccharide in nanodrug delivery. *Drug Delivery and Translational Research*. 2023;13:2427–2446. DOI: 10.1007/s13346-023-01329-4.
4. Супрунчук В. Е., Денисова Е. В. Фукоидан как компонент при разработке таргентных систем доставки лекарственных веществ. *Молекулярная медицина*. 2019;17(5):23–29. DOI 10.29296/24999490-2019-05-03.
5. Flórez-Fernández N., Balboa E. M., Domínguez H. Extraction and purification of fucoidan from marine sources. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*. 2020;2:1093–1125. DOI: 10.1002/9781119143802.ch44.
6. Zayed A., Ulber R. Fucoidans: Downstream processes and recent applications. *Marine Drugs*. 2020;18:170. DOI: 10.3390/md18030170.
7. Gomez L. P., Alvarez C., Zhao M., Tiwari U., Curtin J., Garcia-Vaquero M., Tiwari B. K. Innovative processing strategies and technologies to obtain hydrocolloids from macroalgae for food applications. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116784. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116784.
8. Облучинская Е. Д., Минина С. А. Совершенствование способа получения экстракта из шрота фукусовых водорослей. *Химико-Фармацевтический Журнал*. 2004;38(6):36–39. DOI: 10.30906/0023-1134-2004-38-6-36-39.
9. Hmelkov A. B., Zvyagintseva T. N., Shevchenko N. M., Rasn A. B., Ermakova S. P. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucoidan fractions. *Journal of Applied Phycology*. 2018;30:2039–2046. DOI: 10.1007/s10811-017-1342-9.
10. Jayawardena T. U., Nagahawatta D. P., Fernando I. P. S., Kim Y.-T., Kim J.-S., Kim W.-S., Lee J. S., Jeon Y.-J. A Review on fucoidan structure, extraction techniques, and its role as an immunomodulatory agent. *Marine Drugs*. 2022;20(12):755. DOI: 10.3390/md20120755.
11. Guo X., Ye X., Sun Y., Wu D., Wu N., Hu Y., Chen S. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucoidan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62(5):1088–1095. DOI: 10.1021/jf404717y.
12. Елапов А. А., Кузнецов Н. Н., Марахова А. И. Применение ультразвука в экстракции биологически активных соединений из растительного сырья, применяемого или перспективного для применения в медицине (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):96–116. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116.
13. Белокуров С. С., Флисюк Е. В., Смехова И. Е. Выбор метода экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сеного с высоким содержанием биологически активных веществ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(3):35–39. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-3-35-39.
14. Kaleta A., Frolova N., Orlova A., Soboleva A., Osmolovskaya N., Flisyuk E., Pozharitskaya O., Frolov A., Shikov A. The effects of selected extraction methods and natural deep eutectic solvents on the recovery of active principles from *Aralia elata* var. *mandshurica* (Rupr. & Maxim.) J. Wen: A non-targeted metabolomics approach. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):355. DOI: 10.3390/ph17030355.

15. Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Shikov A. N. In Vitro anti-inflammatory activities of fucoidans from five species of brown seaweeds. *Marine Drugs*. 2022;20(10):606. DOI: 10.3390/md20100606.
16. Ayrapetyan O. N., Obluchinskaya E. D., Zhurishkina E. V., Skorik Yu. A., Lebedev D. V., Kulminskaya A. A., Lapina I. M. Antibacterial properties of fucoidans from the brown algae *Fucus vesiculosus* L. of the Barents sea. *Biology*. 2021;10(1):67. DOI: 10.3390/biology10010067.
17. Jo B. W., Choi S.-K. Degradation of fucoidans from *Sargassum fulvellum* and their biological activities. *Carbohydrate Polymers*. 2014;111:822–829. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.049.
18. Гаврилова А. С., Манаенков О. В., Филатова А. Е. Исследование влияния ультразвукового воздействия на микрокристаллическую целлюлозу. *Вестник ТвГТУ*. 2015;27(1):60–66.
19. Zayed A., El-Aasr M., Ibrahim A.-R. S., Ulber R. Fucoidan characterization: Determination of purity and physicochemical and chemical properties. *Marine Drugs*. 2020;18(11):571. DOI: 10.3390/md18110571.
20. Yan J.-K., Wang Y.-Y., Ma H.-L., Wang Z.-B. Ultrasonic effects on the degradation kinetics, preliminary characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Phellinus linteus* mycelia. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2016;29:251–257. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2015.10.005.
21. Wu T., Zivanovic S., Hayes D. G., Weiss J. Efficient reduction of chitosan molecular weight by high-intensity ultrasound: underlying mechanism and effect of process parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(13):5112–5119. DOI: 10.1021/jf073136q.
22. Pu Y., Zou Q., Hou D., Zhang Y., Chen S. Molecular weight kinetics and chain scission models for dextran polymers during ultrasonic degradation. *Carbohydrate Polymers*. 2017;156:71–76. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.09.017.
23. Yin J.-Y., Ma L.-Y., Siu K.-C., Wu J.-Y. Effects of ultrasonication on the conformational, microstructural, and antioxidant properties of konjac glucomannan. *Applied Sciences*. 2019;9(3):461. DOI: 10.3390/app9030461.
24. Zhang L., Ye X., Ding T., Sun X., Xu Y., Liu D. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013;20(1):222–231. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.021.
25. Czechowska-Biskup R., Rokita B., Lotfy S., Ulanski P., Rosiak J. M. Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. *Carbohydrate Polymers*. 2005;60(2):175–184. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.12.001.
26. Flórez-Fernández N., López-García M., González-Muñoz M. J., López Vilariño J. M., Domínguez H. Ultrasound-assisted extraction of fucoidan from *Sargassum muticum*. *Journal of Applied Phycology*. 2017;29:1553–1561. DOI: 10.1007/s10811-016-1043-9.
27. Wang P., Cheng C., Ma Y., Jia M. Degradation behavior of polyphenols in model aqueous extraction system based on mechanical and sonochemical effects induced by ultrasound. *Separation and Purification Technology*. 2020;247:116967. DOI: 10.1016/j.seppur.2020.116967.
2. Lomartire S., Gonçalves A. M. M. Algal phycocolloids: bioactivities and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*. 2023;21(7):384. DOI: 10.3390/md21070384.
3. George A., Shrivastav P. S. Fucoidan, a brown seaweed polysaccharide in nanodrug delivery. *Drug Delivery and Translational Research*. 2023;13:2427–2446. DOI: 10.1007/s13346-023-01329-4.
4. Suprunchuk V. E., Denisova E. V. Fucoidan as a component in the development of target systems for the delivery of medicinal substances. *Molecular medicine*. 2019;17(5):23–29. (In Russ.) DOI 10.29296/24999490-2019-05-03.
5. Flórez-Fernández N., Balboa E. M., Domínguez H. Extraction and purification of fucoidan from marine sources. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*. 2020;2:1093–1125. DOI: 10.1002/9781119143802.ch44.
6. Zayed A., Ulber R. Fucoidans: Downstream processes and recent applications. *Marine Drugs*. 2020;18:170. DOI: 10.3390/md18030170.
7. Gomez L. P., Alvarez C., Zhao M., Tiwari U., Curtin J., Garcia-Vaquero M., Tiwari B. K. Innovative processing strategies and technologies to obtain hydrocolloids from macroalgae for food applications. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116784. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116784.
8. Obluchinskaya E. D., Minina S. A. Improvement of the method for obtaining extract from fucus algae meal. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2004;38(6):36–39. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2004-38-6-36-39.
9. Hmelkov A. B., Zvyagintseva T. N., Shevchenko N. M., Rasin A. B., Ermakova S. P. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucoidan fractions. *Journal of Applied Phycology*. 2018;30:2039–2046. DOI: 10.1007/s10811-017-1342-9.
10. Jayawardena T. U., Nagahawatta D. P., Fernando I. P. S., Kim Y.-T., Kim J.-S., Kim W.-S., Lee J. S., Jeon Y.-J. A Review on fucoidan structure, extraction techniques, and its role as an immunomodulatory agent. *Marine Drugs*. 2022;20(12):755. DOI: 10.3390/md20120755.
11. Guo X., Ye X., Sun Y., Wu D., Wu N., Hu Y., Chen S. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucoidan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62(5):1088–1095. DOI: 10.1021/jf404717y.
12. Elapov A. A., Kuznetsov N. N., Marakhova A. I. The Use of Ultrasound in the Extraction of Biologically Active Compounds from Plant Raw Materials, Used or promising for Use in Medicine (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(4):96–116. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116.
13. Belokurov S. S., Flysyuk E. V., Smekhova I. E. Choice of Extraction Method for Receiving Extraction from Seeds of Payne Hay with the High Content of Biologically Active Substances. *Drug development & registration*. 2019;8(3):35–39. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-3-35-39.
14. Kaleta A., Frolova N., Orlova A., Soboleva A., Osmolovskaya N., Flisyuk E., Pozharitskaya O., Frolov A., Shikov A. The effects of selected extraction methods and natural deep eutectic solvents on the recovery of active principles from *Aralia elata* var. *mandshurica* (Rupr. & Maxim.) J. Wen: A non-targeted metabolomics approach. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):355. DOI: 10.3390/ph17030355.
1. Usov A. I., Bilan M. I. Fucoidans – sulfated polysaccharides of brown algae. *Russian Chemical Reviews*. 2009;78(8):785–799. (In Russ.) DOI: 10.1070/RC2009v078n08ABEH004063.

REFERENCES

15. Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Shikov A. N. In Vitro anti-inflammatory activities of fucoidans from five species of brown seaweeds. *Marine Drugs*. 2022;20(10):606. DOI: 10.3390/md20100606.
16. Ayrapetyan O. N., Obluchinskaya E. D., Zhurishkina E. V., Skorik Yu. A., Lebedev D. V., Kulminskaya A. A., Lapina I. M. Antibacterial properties of fucoidans from the brown algae *Fucus vesiculosus* L. of the Barents sea. *Biology*. 2021;10(1):67. DOI: 10.3390/biology10010067.
17. Jo B. W., Choi S.-K. Degradation of fucoidans from *Sargassum fulvellum* and their biological activities. *Carbohydrate Polymers*. 2014;111:822–829. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.049.
18. Gavrilova A. S., Manaenkov O. V., Filatova A. E. Research of microcrystalline cellulose ultrasonic treatment. *Vestnik of Tver State Technical University*. 2015;27(1):60–66. (In Russ.)
19. Zayed A., El-Aasr M., Ibrahim A.-R. S., Ulber R. Fucoi-dan characterization: Determination of purity and physicochemical and chemical properties. *Marine Drugs*. 2020;18(11):571. DOI: 10.3390/md18110571.
20. Yan J.-K., Wang Y.-Y., Ma H.-L., Wang Z.-B. Ultrasonic effects on the degradation kinetics, preliminary characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Phellinus linteus* mycelia. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2016;29:251–257. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2015.10.005.
21. Wu T., Zivanovic S., Hayes D. G., Weiss J. Efficient reduction of chitosan molecular weight by high-intensity ultrasound: underlying mechanism and effect of process parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(13):5112–5119. DOI: 10.1021/jf073136q.
22. Pu Y., Zou Q., Hou D., Zhang Y., Chen S. Molecular weight kinetics and chain scission models for dextran polymers during ultrasonic degradation. *Carbohydrate Polymers*. 2017;156:71–76. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.09.017.
23. Yin J.-Y., Ma L.-Y., Siu K.-C., Wu J.-Y. Effects of ultrasonication on the conformational, microstructural, and antioxidant properties of konjac glucomannan. *Applied Sciences*. 2019;9(3):461. DOI: 10.3390/app9030461.
24. Zhang L., Ye X., Ding T., Sun X., Xu Y., Liu D. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013;20(1):222–231. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.021.
25. Czechowska-Biskup R., Rokita B., Lotfy S., Ulanski P., Rosiak J. M. Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. *Carbohydrate Polymers*. 2005;60(2):175–184. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.12.001.
26. Flórez-Fernández N., López-García M., González-Muñoz M. J., López Vilariño J. M., Domínguez H. Ultrasound-assisted extraction of fucoidan from *Sargassum muticum*. *Journal of Applied Phycology*. 2017;29:1553–1561. DOI: 10.1007/s10811-016-1043-9.
27. Wang P., Cheng C., Ma Y., Jia M. Degradation behavior of polyphenols in model aqueous extraction system based on mechanical and sonochemical effects induced by ultrasound. *Separation and Purification Technology*. 2020;247:116967. DOI: 10.1016/j.seppur.2020.116967.